В.В. Куриннов, Н.И. Бунькова, Е.А. Балашова, В.А. Зеленцов
ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии, г. Покров

ВСПЫШКА РРСС В СВИНОКОМПЛЕКСЕ ПРОМЫШЛЕННОГО ТИПА: ПРОЯВЛЕНИЯ БОЛЕЗНИ И ПЕРСИСТЕНЦИЯ ВИРУСА

Вирус репродуктивного и респираторного синдрома (в РРСС) более десяти лет создает проблемы в промышленном свиноводстве. Такая ситуация связана с тем, что все еще нет общепризнанных взглядов относительно эффективных способов контроля болезни, а для применения вакцин никаких ограничений не существует. Широкое использование во многих свинокомплексах Российской Федерации коммерческих вакцин (инактивированная ПЛАРР производства НПО «Нарвак», живая против РРСС и инактивированная против РРСС и ПВИС производства ФГУ ВНИИЗЖ), не всегда приводит к желаемому эффекту. Так, в некоторых хозяйствах были получены хорошие результаты, в других они отсутствовали. Вакцины даже обвиняли в создании более серьезных проблем (массовых абортов и комплекса респираторных болезней у молодняка постотъемного периода, особенно в свиноводческих хозяйствах с полным циклом выращивания свиней). Такие противоречивые результаты после применения вакцин предполагают наличие нескольких причин: недостаточная иммуногенная активность вакцины из-за низкого содержания «протективного антигенного материала», отсутствия перекрестного иммунитета (в случае антигенного несоответствия вариантов полевого и вакцинного вируса) или полное отсутствие выработки иммунитета у свиней на введение вакцины вследствие неопределенных причин.

В данной работе представлен анализ результатов эпизоотологических диагностических исследований и роли вируса РРСС в этиологии массовых абортов в одном из свинокомплексов промышленного типа.

Материалы и методы

Характеристика свинокомплекса

В свинокомплексе с объемом производства 108 тыс. свиней в год, в 2 производственных комбинатах (№ 1 и № 2) содержалось 7300 свиноматок,а на в племферме, расположенной в 1,5 км от производственной зоны 3760. Каждый месяц, в производственной зоне осеменялось в среднем около 700 свиноматок. Взрослые животные вакцинировались против КЧС, рожи, лептоспироза, поросята – против КЧС, (согласно наставлений по применению вакцин). С 2004 г. была введена вакцинация свиноматок против трансмиссивного гастроэнтерита и болезни Ауески.

Для профилактики РРСС и ПВИС с 2000 года применяли вакцину эмульсионную инактивированную против репродуктивно-респираторного синдрома (штамм БД американского варианта) и парвовирусной инфекции свиней производства ФГУ ВНИИЗЖ за 30 дней до осеменения, по схеме (согласно наставлений производителя).

Краткие эпизоотологические сведения

В 2001 г. показатель смертности поросят от рождения до отъема не превышал 7-13%, отъема-доращивания 6-7% и откорма 2%, т.е. был в пределах допустимых технологией нормы. Аборты были случайными, вызванными физиологическим дисбалансом, механическими повреждениями и др. и составляли в группах не более 0,3-0,9% от количества осемененных свиноматок.

В августе-сентябре 2001 г. после карантина в основное стадо свиноматок комбината № 2, были введены около 80 ремонтных свинок «Hypur», завезенные из Польши. Животные не имели антител к вирусам РРСС, парвовирусной инфекции, болезни Ауески, трансмиссивного гастроэнтерита, болезни Тешена. По достижении половозрелого возраста свинки были искусственно осеменены спермой от хряков свинокомплекса.

С декабря 2001 г. у свиноматок (основных и первоопоросок) комбината № 2 начались аборты, инцидентность которых увеличивалась в январе 2002 г. Для установления причины абортов в областной лаборатории и ГНУ ВНИИВВиМ были проведены дифференциальные лабораторные исследования и исключены классическая чума свиней, болезнь Ауески, парвовирусная инфекция, отравления и все известные кормовые токсикозы. Было высказано предположение, что основной причиной массовых абортов является вирус РРСС.

Лабораторные исследования

С целью обнаружения вируса у свиноматок пробы крови брали на 1-3 сутки пос-

ле аборта, а также околоплодные жидкости, для серологических исследований отбирали парные пробы крови.

Для выделения вируса использовали первичную культуру альвеолярных макрофагов 3-5 недельных поросят, выращенных на стеклянных пластинках в пробирках. Репродукцию вируса подтверждали реакцией непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ), в качестве немеченых промежуточных специфических антител использовали сыворотки к вирусу РРСС европейского варианта, штаммов «Lelistad» и «Самара –96» в разведении 1:80. Люминесцентную микроскопию проводили с использованием микроскопа IMT2-RFL («Olympus»).

Вирусспецифическую РНК в исследуемых материалах определяли ОТ-ПЦР с использованием тест-системы для обнаружения вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней (производство НПО Нарвак).

Для обнаружения и дифференциации специфических антител к американскому и европейскому вариантам вируса и определения сероконверсии пробы сывороток крови исследовали реакцией непрямой имунофлуоресценции (РНИФ) с использованием в качестве тест-препаратов культуру клеток MARC –145, инфицированную европейским (штамм «Lelystad» или «Самара-96» для обнаружения антител к европейскому варианту вируса) или американским (вакцинный штамм «БД» для обнаружения антител к американскому варианту вируса), а также ИФА («РРСС-СЕРОТЕСТ», производства НПО Нарвак), которым обнаруживаются антитела к обоим вариантам вируса.

Результаты исследований и обсуждение

Динамика инцидентности абортов, клинические симптомы и макроскопические изменения

С января 2002 г. у свиноматок 1-й и 2-й половины супоросности *комбината № 2* начали регулярно проявляться аборты среди «своих» и вновь введенных осемененных свиноматок «Hypur», с постепенным спорадическим увеличением их инцидентности (рис.1). В течение 2002 г. было 3 пика увеличения (январь-май-октябрь), когда количество абортов было соответственно 57, 42 и 49. Всего, за 2002 г. абортировало 268 свиноматок, из них 61% - основные и 39% - первоопороски. После короткого периода некоторого снижения инцидентности в феврале-марте 2003 г. наблюдали повторное увеличение абортов (88 и 68, соответственно). Затем, после снижения в весенне-летние месяцы в ноябре был новый пик инцидентности, 133 абортов. В целом, по сравнению с 2002 г. в 2003 г. наблюдалась тенденция последовательного увеличения инцидентности абортов и к концу года их количество достигло 455.

Выраженных патологических изменений в развитии плодов у абортировавших свиноматок в этот период не наблюдали.

В июне-июле 2004 года значительное увеличение количества абортов регистрировали одновременно в *обоих комбинатах* (рис. 1). Наблюдалось значительное варьирование случаев абортов в зависимости от стадии супоросности, однако в периоды максимального количества абортов более 50% случаев было в конце третьего триместра супоросности.

Основные изменения имели место в легких абортировнных плодов, в виде раз-

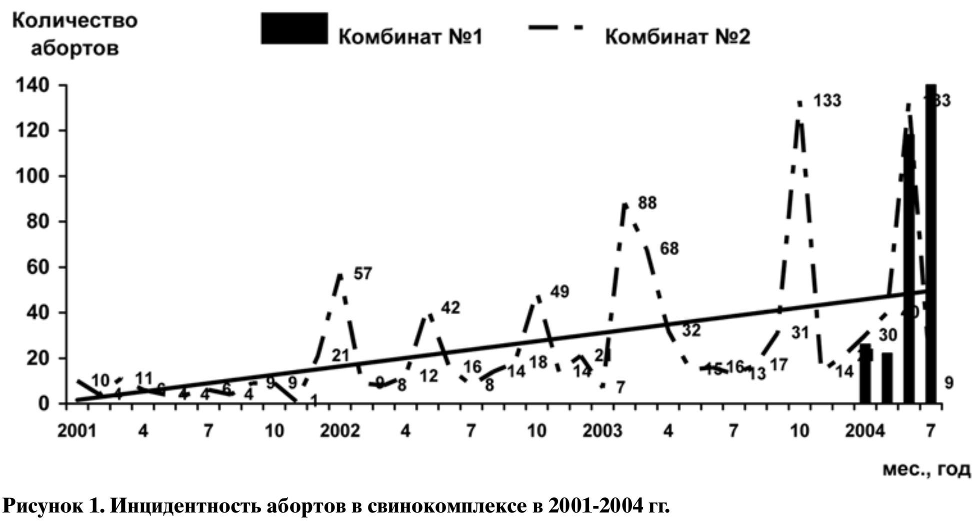


Рисунок 1. Инцидентность абортов в свинокомплексе в 2001-2004 гг.



Рисунок 3. Пупочный канатик плода при аборте на 100 сутки супоросности. Диффузное геморрагическое (а) и сегментарное (б) воспаление

ного цвета ткани от светло-розового до темно-красного, свидетельствующие о нарушении кровообращения в сосудах микроциркуляторного русла и начальной стадии катарального воспаления пульпы и интерстициальной ткани (рис. 2). У некоторых плодов свиноматок, абортировавших на 105-111 сутки супоросности пупочные канатики имели диффузные или сегментные геморрагии (рис. 3).

Некоторые пометы имели мертвые, мумифицированные и нормальные плоды. В некоторых пометах только несколько поросят-сосунов оставались живыми после рождения. У свиноматок с благополучным исходом супоросности в 25-30% случаев наблюдали агалактию и нарушения в поведении, которые проявляли нежелание кормить своих новорожденных поросят, что приводило многих из них к гибели.

Поросята низкого веса и жизнеспособности имели существенные трудности сосания и входили в гипогликемическую кому. Некоторые поросята-сосуны имели за-

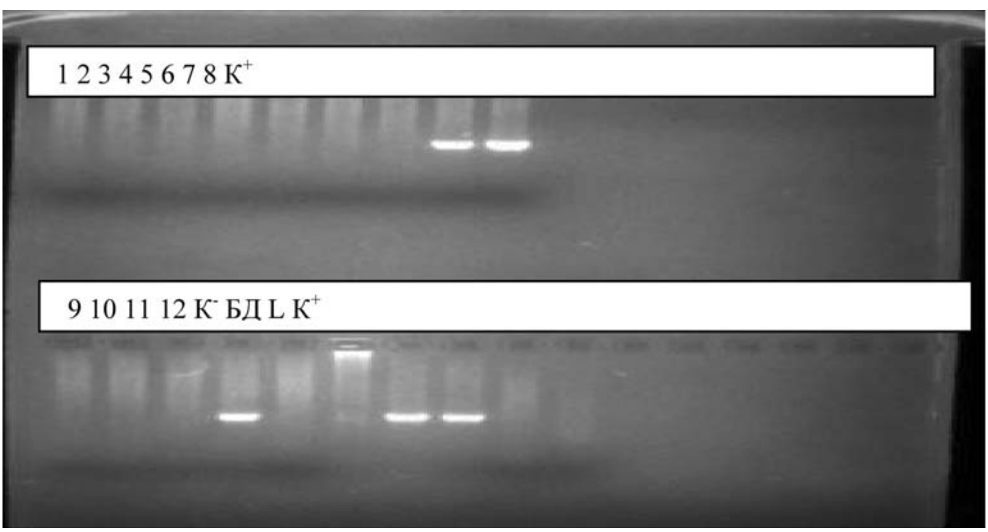


Рисунок 4. Электорофореграмма продуктов ОТ-ПЦР, полученных в результате амплификации РНК, выделенной из АМС 1-го пассажа, инокулированных суспензией легких и экссудатами плодов абортировавших свиноматок

Номера треков: 1 – экссудат плода (свиноматка № 6785); 2 - экссудат плода 1 (свиноматка № 8631); 3 - экссудат плода (свиноматка № 8887); 4 - экссудат плода 2 (свиноматка № 8631); 5 - экссудат плода (свиноматка № 2006); 6 - экссудат плода (свиноматка № 1632); 7 – смесь легких плодов (свиноматки №№ 6785,9207, 8631, 8887); 8 – легкое плода (свиноматка № 1632); К+ - положительный контроль Набора; 9 - сыворотка хряка № 7983; 10 - сыворотка свиноматки № 2830 (аборт 105 дн.); 11 – сыворотка свиноматки №9401 (аборт 106 дн.); 12 – сыворотка свиноматки № 9591 (аборт 100 дн.); К - отрицательный контроль (незараженные АМС); БД – вирусвакцина против РРСС из штамма «БД»(ФГУ ВНИИЗЖ) ; L – вирус РРСС, штамм «Lelistad» (европейский serовариант).

Таблица

Сводные данные серологических и вирусологических исследований

Год, мес.		№ комбината	Кол. проб	Антитела			Вирус	
				РНИФ		ИФА (EU+US)	ПЦР	АМС
				EU	US			
2002	ноябрь	№ 2, свиноматки аборт	9	9/9 1:40-80	Н.и.	Н.и.	Н.и.	Н.и.
	ноябрь	№ 2 свиноматки через 21 день после аборта	13	13/13 1:320-640	Н.и.	Н.и.	Н.и.	Н.и.
2003	март	Хряки	110	10/110 1:16-32	70/110 1:64-256	60/110 (54,5%)	3/110	Н.и.
	ноябрь	№ 1, свиноматки*	20	2/20 1:16-64	11/20 1:64-256	9/20 (45%)	-	-
	ноябрь	№ 2, свиноматки**	23	17/23 1:64-256	10/23 1:128-256	7/23 (30%)	-	-
2004	март	№ 1, свиноматки*	20	18/20 1:64-256	5/20 1:64-256	5/20 (25%)	-	-
	март	№ 2, свиноматки**	23	20/23 1:128-512	12/23 1:64-256	10/23 (43,5%)	-	-
	май	№2, свиноматки***	6	0/6	6/6 1:64-128	6/6	-	-
	июль	№ 2, свиноматки***	6	6/6 1:64-256	6/6 1:64-128	6/6	-	-
	июнь	№ 2, свиноматки аборт 100-106 дн.	4	4/4 1:80	4/4 1:64-128	4/4	4	2
		Плодная жидкость (аборт 94-101 дн.)	6	-	-	-	1/6	3/6

Обозначение: *, **, *** - исследование парных сывороток; US –антитела к американскому варианту, EU- антитела к европейскому варианту вируса РРСС.
Числитель – количество положительных, знаменатель – количество исследованных проб

трудненное дыхание. Гибели свиноматок не наблюдали. Клинических признаков болезни у хряков не было установлено.

Результаты лабораторных диагностических исследований

Аборты свиноматок комбината № 2, проявившиеся в виде череды спорадических пиков с начала 2002 г. стали основанием для подозрения РРСС.

Сводные данные серологических и вирусологических исследований представлены в таблице. Так, в 2002 г., в результате исследования РНИФ 22 проб сывороток крови, отобранных в момент аборта (9 проб) и через 21 день после аборта была установлена 8- кратная сероконверсия антител к европейскому варианту вируса РРСС. Подтверждение персистенции вируса европейского варианта было получено при исследовании антител сывороток, отобранных от хряков в период первого пика 2003 г. и сероконверсии антител к европейскому варианту у свиноматок в период второго пика абортов.

ИФА «РРСС-СЕРОТЕСТом и РНИФ было установлено, что количество серопозитивных свиноматок к вакцинному (т.е. к американскому варианту) комбината № 1 и № 2 не превышает 45%, что свидетельствует, несмотря на вакцинацию, о значительном количестве животных, не имеющих антител. В марте 2003 г., при серологическом обследовании всех хряков в 9% обнаружены антитела к вирусу европейского и в 64% - к американскому вариантам. Получение положительных результатов ПЦР при исследовании проб патологического материала от абортированных плодов, сыворотки крови, полученной от свиноматки в день аборта (рис. 4), а также в 2-х пробах сывороток и 1 пробы спермы из 110 обследованных хряков (данные в таблице не представлены) дают основание предполагать о циркуляции вируса РРСС европейского варианта среди свиноматок и хряков.

И, наконец, в 2004 г. из сывороток крови свиноматок и плодной жидкости плодов был выделен вирус РРСС европейского варианта.

Таким образом, обнаружение антител к европейскому варинту вируса РРСС, установленная сероконверсия, положительные результаты ПЦР, а затем, выделение вируса от абортировавших свиноматок и плодов подтвердили правильность предположения об основной роли вируса РРСС европейс-

кого варианта в возникновении массовых абортов. Полученные данные позволяют предположить, что заражение полевым вирусом РРСС, вызвавшее аборты, произошло в конце 2001 г. или в начале 2002 г., однако, циркуляция полевого вируса европейского варианта в хозяйстве была значительно раньше, о чем свидетельствовало увеличение инцидентности после введения в основное стадо «польских» свиней.

На основании полученных данных можно сделать следующие предположения о роли вируса РРСС и вспышках абортов в свинокомплексе в 2001-2002 гг.:

1. Вирус РРСС европейского варианта, несмотря на регулярную вакцинацию инактивированной вакциной циркулировал у свиноматок и хряков комбината № 2 до вспышки абортов, т.е. до 2001 г. Несмотря на отсутствия перекрестного иммунитета, индуцированного вирусом американского варианта против вируса европейского варианта, возможно, применяемая вакцина препятствовала распространению резиденского вируса в стаде свиноматок.

2. В результате инфицирования серонегативных свинок «Hypur» в производственном стаде резиденским вирусом привело к изменению его патогенности (геморрагическое воспаление пупочных канатиков) и популяционный иммунитет (по серологическим данным не более 50%) уже не препятствовал передаче вируса «свиноматка-свиноматка»;

3. На «поддержание», продолжительность персистенции вируса и инцидентность абортов оказали влияние отсутствие технологического разрыва на участках № 1, 2 т.е. «пусто-занято», высокий процент замен ремонтными свинками, использование хряков-пробников, в том числе для случки.

УДК 619:616.993.1:636.2

А.П. Красиков, Н.В. Рудаков, К.К. Бейсембаев, Л.В. Кумпан
ИВМ ФГОУ ВПО ОмГАУ, ФГУ НИИПОИ Роспотребнадзора

ОСНОВНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВОЗБУДИТЕЛЯ АНАПЛАЗМОЗА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ОТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Анаплазмоз (гранулоцитарный эрлихиоз) наносит большой экономический ущерб животноводству, который складывается из снижения мясо-молочной продуктивности, снижения качества и количества продуктов животного происхождения, ущерб от недополучения молодняка и гибели животных.

Основной хозяин возбудителя болезни – Anaplasma marginale –крупный рогатый скот. Анаплазмы локализуются в эритроцитах, иногда их находят в лейкоцитах и тромбоцитах. При исследовании мазков крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе, обнаруживают круглые включения величиной 0,2-1,2 мкм темнофиолетовогоо цвета. Располагаются в эритроцитах (преимущественно на периферии, иногда ближе к центру). В одном эритроците может быть от одного до четырех включений. Пораженность эритроцитов составляет 3-40%, иногда до 80% [1]. По морфологии анаплазмы в световом микроскопе напоминает кокковидные формы риккетсий. Анаплазмы как и риккетсии, являются внутриклеточными паразитами, однако, первые размножаются в эритроцитах или в фагосомах лейкоцитов, а вторые – в цитоплазме эндотелиальных и мезотелиальных клеток [3]. В частности, Yasuko Rikihisa (1996) пишет, возбудитель A. marginale поражает клетки гранулоцитарного ряда и относит его к эрлихиям. За основу систематизации эрлихий, она берет локализацию возбудителя в клетках крови.

По другим данным отечественной и зарубежной литературы, возбудители анаплазмоза имеют близкое родство с эрлихиями, они относятся к одному и тому же семейству Anaplasmataceae.

Выполненные в последние годы исследования позволили выяснить, что анаплазмы, эперитрозооны, гемобартонеллы и некоторые другие микроорганизмы по своей структуре принципиально отличаются от простейших, к которым их относили